



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO



Dissertação – Artigo de investigação médica Mestrado Integrado em
Medicina – 2014/2015

**Análise das infeções por microrganismos resistentes aos
carbapenemes no Centro Hospitalar do Porto, no ano de 2014.**

João Manuel Rebelo De Sousa

Orientador:

Dra. Ernestina Reis.

Co-orientador:

Dr. Paulo Pereira

Artigo de investigação médica

**Análise das infeções por microrganismos resistentes aos
carbapenemes no Centro Hospitalar do Porto, no ano de 2014.**

Autor:

João Manuel Rebelo De Sousa

Estudante do 6º ano Profissionalizante do Mestrado Integrado em Medicina

Endereço: Rua S. Sebastião, nº20. 5300-053 Bragança.

Email: j0aos@hotmail.com

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar – Universidade do Porto

Endereço: Rua de Jorge Viterbo Ferreira n.º 228, 4050-313 Porto

Orientadores:

Dra. Maria Ernestina Matos Dias Reis

Professor Associado Convidado – ICBAS

Serviço de Medicina – Centro Hospitalar do Porto

Dr. Paulo José da Silva Soares Pereira

Patologista Clínico

Serviço de Microbiologia – Centro Hospitalar do Porto

ÍNDICE

Abstract and keywords.....	4
Resumo e palavras-chave.....	6
Lista de abreviaturas	7
Introdução.....	8
Materiais e métodos	9
Resultados.....	10
Discussão	17
Referências bibliográficas	20
Agradecimentos.....	23

Abstract

Introduction:

In recent years there has been a worrying increase in the number of infection by multi-resistant bacteria. The incidence rates of infection with these bacteria are an indicator of quality of health services.

Objectives:

Assess trends in the incidence of infections associated with carbapenem-resistant organisms. Analyze of demographic, clinical, laboratory data, therapeutic and the presence of risk factors for such infections.

Methods:

Retrospective study of the incidence through the review of clinical data, carried out in medical and surgical wards and Intensive Care Unit in a central hospital, between January 2014 and December 2014.

Results:

During the study period were identified 242 cases of carbapenem-resistant organisms, with a predominance of male sex (67,5%). The identified bacteria were *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella oxytoca* and *Citrobacter koseri*. 76,6% of the cases were accounted for infection. The overall incidence rate of infection per 1000 patient days in hospital was 1,04 , corresponding to 0,72 infections per 100 admissions. There was no patients without risk factors and in most of the cases was identified the prior use of antibiotics (92% of cases). In most of the cases the medical intervention had a positive outcome, although 32,2% of the cases counted with infection status, died during hospitalization.

Conclusion:

This is the first study of this nature carried out in the institution and should be the starting point for a continued vigilance leading to identifying problems and implementing measures solving them. Rapid and coordinated efforts by clinicians and health departments are crucial to control the spread of infections by carbapenem-resistant organisms.

Keywords

Multidrug resistance, Bacteria, Carbapenems, Antibiotics, Infection.

Resumo

Introdução

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento preocupante do número de infecções por bactérias multirresistentes. As taxas de incidência de infecção por estas bactérias são um indicador de qualidade dos serviços de saúde.

Objetivos

Avaliar a incidência de infecções por microrganismos resistentes aos carbapenemes. Analisar dados demográficos, clínicos, laboratoriais, terapêuticos e presença de fatores de risco nessas infecções.

Materiais e métodos

Estudo retrospectivo da incidência de infecção por microrganismos resistentes aos carbapenemes através de revisão de processos clínicos e base de dados microbiológicos, efetuado nas enfermarias dos vários serviços de um hospital central, durante o ano de 2014.

Resultados

Durante o período de estudo foram identificados 242 casos de microrganismos resistentes aos carbapenemes, com predomínio por doentes do sexo masculino (67,5 %). As bactérias identificadas foram *Pseudomonas aeruginosa* , *Acinetobacter baumannii* , *Enterobacter cloacae* , *Klebsiella pneumoniae* , *Proteus mirabilis* , *Klebsiella oxytoca* e *Citrobacter koseri* . Em 76,6 % dos casos foram contabilizados como agentes infetantes. A taxa de incidência global de infecção por 1000 paciente dia no hospital foi 1,04 , correspondendo a 0,72 infecções por 100 admissões. Não foram encontrados doentes sem fatores de risco e, na maioria dos casos foi identificado o uso prévio de antibióticos (92%). A taxa de mortalidade nos casos considerados como agente infetante foi de 32,2%.

Conclusão

Este é o primeiro estudo desta natureza realizado na instituição sobre microrganismos resistentes aos carbapenemes. Deve ser o ponto de partida para uma vigilância constante para identificar os problemas e as medidas para combater este tipo de infeções associadas aos cuidados de saúde.

Palavras chave.

Microrganismos multirresistentes, Bactéria, Carbapenemes, Antibióticos, Infeção.

Abreviaturas

MRC: Microrganismos resistentes aos carbapenemes.

BMR: Bactérias multirresistentes.

CDC: Centers for Disease Control and Prevention.

CHP: Centro Hospitalar do Porto.

SNG: Sonda Nasogástrica.

CVC: Catéter venoso central.

Introdução

A descoberta dos antibióticos e a sua utilização como terapia anti-infeciosa constituiu um progresso inquestionável da Medicina do século XX. No entanto, a eficácia dos mesmos foi em alguns casos rapidamente superada pela capacidade que as bactérias têm de resistir à sua ação. Podem adquirir resistência modificando o seu genoma por mutação ou incorporando genes provenientes de outros microrganismos por diferentes sistemas de transferência genética⁽¹⁾.

Nos últimos anos tem-se assistido a um aumento preocupante do número de bactérias multirresistentes (BMR), que não respondem a algumas classes de antimicrobianos, o que representando um problema à escala mundial. Consequentemente, observa-se um aumento das taxas de morbilidade, mortalidade e dos custos que as infeções por estes microrganismos acarretam⁽²⁻³⁾.

As taxas de incidência de infeção por estas bactérias são também um indicador de qualidade dos serviços de saúde. Estão descritos vários fatores de risco para infeções por BMR: consumo inadequado de antibióticos, não cumprimento de medidas de controlo de infeção tais como higiene das mãos e medidas de isolamento, a gravidade e complexidade dos doentes com doenças crónicas, internamentos prolongados e maior utilização de dispositivos invasivos (cateter venoso central e sonda vesical)⁽¹⁻²⁾.

Também nas infeções da comunidade se tem revelado crescente a importância destes microrganismos⁽⁴⁾.

O problema das BMR é ainda mais grave devido à escassez de novos anti-microbianos em investigação⁽⁵⁾.

Nos últimos 20 anos o uso dos carbapenemes tem sido utilizado na terapêutica de infeções por Enterobactérias⁽²⁰⁾, mas temos assistido globalmente a um aumento da resistência dos microrganismos a esta classe de antibióticos. A crescente utilização de carbapenemes no ambiente hospitalar acaba por causar maior pressão seletiva sobre os microrganismos nosocomiais, o que favorece a seleção de subpopulações de microrganismos com sensibilidade diminuída ou resistente a estes antibióticos.

Os estudos de incidência são ferramentas muito úteis na monitorização destas infeções numa determinada população e no conhecimento do seu verdadeiro impacto, permitindo comparações mais fidedignas entre instituições.

Por este motivo, a vigilância epidemiológica nacional e institucional é essencial, de modo a serem identificadas as causas do problema e a serem implementadas medidas de prevenção de aparecimento e disseminação destes microrganismos.

Materiais e Métodos

Após parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde e pelo Gabinete Coordenador de Investigação do Departamento de Ensino, Formação e Investigação do Centro Hospitalar do Porto (CHP), procedeu-se ao estudo retrospectivo descritivo efetuado num hospital central que registou, no ano de 2014, 33.788 internamentos e 233.439 dias de internamento⁽⁶⁾.

Envolveu uma amostra de doentes internados no CHP, no período entre 1 de Janeiro de 2014 a 31 de Dezembro de 2014, que apresentaram isolamento pelo Laboratório de Microbiologia de microrganismos resistentes aos carbapenemes.

A recolha de dados foi realizada através da consulta do processo clínico eletrónico, disponível no Sistema de Apoio ao Médico. As variáveis recolhidas foram: idade, género, presença de doença cardiovascular, respiratória, neurológica, hepática, renal, oncológica, diabetes *mellitus*, o uso de imunossuppressores, existência de dispositivos invasivos, isolamentos microbiológicos prévios no mesmo internamento com carácter infeccioso, história prévia de isolamentos de BMR, identificação do microrganismo isolado, produto biológico, antibioterapia prévia no mesmo internamento, alteração da antibioterapia após conhecimento do microrganismo isolado, agente com status colonizante/infetante, duração de tratamento com antibiótico dirigido, mês de isolamento microbiológico, serviço em que foi isolado, história de hospitalização nos 3 meses prévios ao atual internamento, duração do internamento, tempo entre data de internamento e data de isolamento do microrganismo, resultado da susceptibilidade a carbapenemes e tipo de infeção.

Para definição de infeção utilizaram-se os critérios do Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁽⁷⁾. Considerou-se como infeção uma condição sistémica ou localizada, resultante de uma reação orgânica adversa à presença de um agente infeccioso ou da sua toxina, quando o microrganismo foi isolado a partir de fluidos ou tecidos de locais biologicamente estéreis. Foi considerada colonização a presença de microrganismos na pele ou mucosas, feridas abertas ou secreções sem causar sinais ou sintomas adversos⁽⁷⁾. Nos casos em que se identificou o mesmo microrganismo mais do que uma vez no mesmo doente, durante o período deste estudo, apenas com alterações minor no antibiograma, este foi apenas contabilizado uma vez, correspondendo sempre ao primeiro episódio de infeção por esta bactéria.

Os microrganismos foram isolados de produtos biológicos (sangue, urina, fezes, líquido cefalorraquidiano, líquido peritoneal, líquido biliar, secreções respiratórias, exsudados) através de cultura, no Serviço de Microbiologia do CHP. A identificação dos microrganismos e o teste de sensibilidade aos antibióticos foram efetuados de acordo com a metodologia em

uso no Laboratório de Microbiologia do CHP, confirmado sempre neste tipo de casos com determinação da concentração inibitória mínima através do E-teste.

Foram considerados como microrganismos resistentes aos carbapenemes (MRC), microrganismos que apresentavam resistência a pelo menos um dos seguintes antibióticos: Ertapenem, Meropenem e Imipenem.

Foram usados dois indicadores de vigilância epidemiológica: incidência de infecção por MRC por 1000 dias de internamento e incidência de infecção por MRC por cada 100 internamentos.

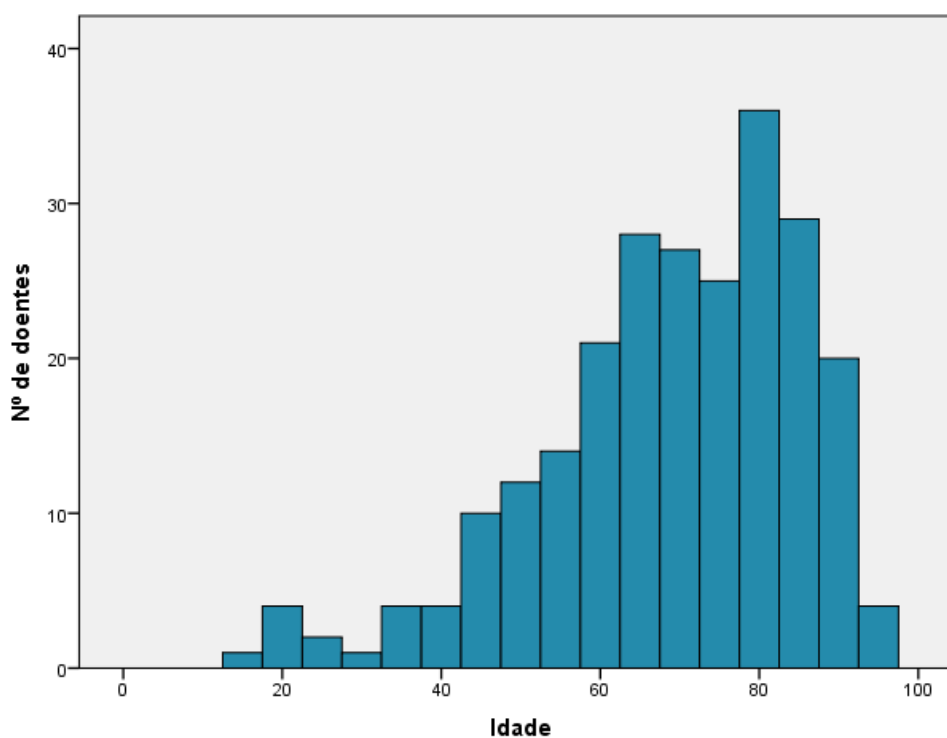
Análise estatística Os dados obtidos foram colocados numa base de dados em Excel, sendo posteriormente analisados através do programa IBM SPSS Statistics versão 22. A análise descritiva foi efetuada pela determinação de frequências absolutas e relativas para variáveis qualitativas e pelo cálculo de média, desvio padrão, mediana, quartis e extremos para variáveis quantitativas.

Resultados

Descrição da amostra

Durante o período em estudo foram documentados 242 isolamentos de MRC em doentes internados no CHP. A taxa global de incidência de infecção por MRC foi de 1,04 por 1000 dias de internamento, correspondendo a 0,72 infecções por 100 internamentos. Os doentes tinham uma média de idades de $68,8 \pm 17,45$ anos (min=15; max=94), como pode ser visto na Figura 1, sendo 67,5% do sexo masculino e 32,5% do sexo feminino.

Figura 1. Frequência da idade dos doentes em estudo.



Características clínicas

A tabela I apresenta as características clínicas do total dos doentes. De notar que todos os doentes apresentaram fatores de risco para infecções por BMR.

Tabela I. Características clínicas dos doentes.

Fatores de risco		Percentagem
Doença Respiratória		43,2%
Cardiovascular		81,1%
Neurológica		32,5%
Renal		32,1%
Hepática		15,6%
Oncológica		17,7%
Diabetes <i>mellitus</i>		27,2%
Uso de imunossupressores		14%
Dispositivos invasivos	Nenhum	32,1%
	Sonda vesical	14%
	Catéter venoso central (CVC)	11,5%
	Sonda Nasogástrica (SNG)	2%
	Traqueostomia	6,6%
	Sonda vesical + CVC	7,8%
	Dreno cirúrgico + CVC + sonda vesical	22,6%
	SNG + Dreno cirúrgico + CVC	1,2%
	Sonda vesical + SNG + CVC	2%
Hospitalização < 3 meses		32.9%

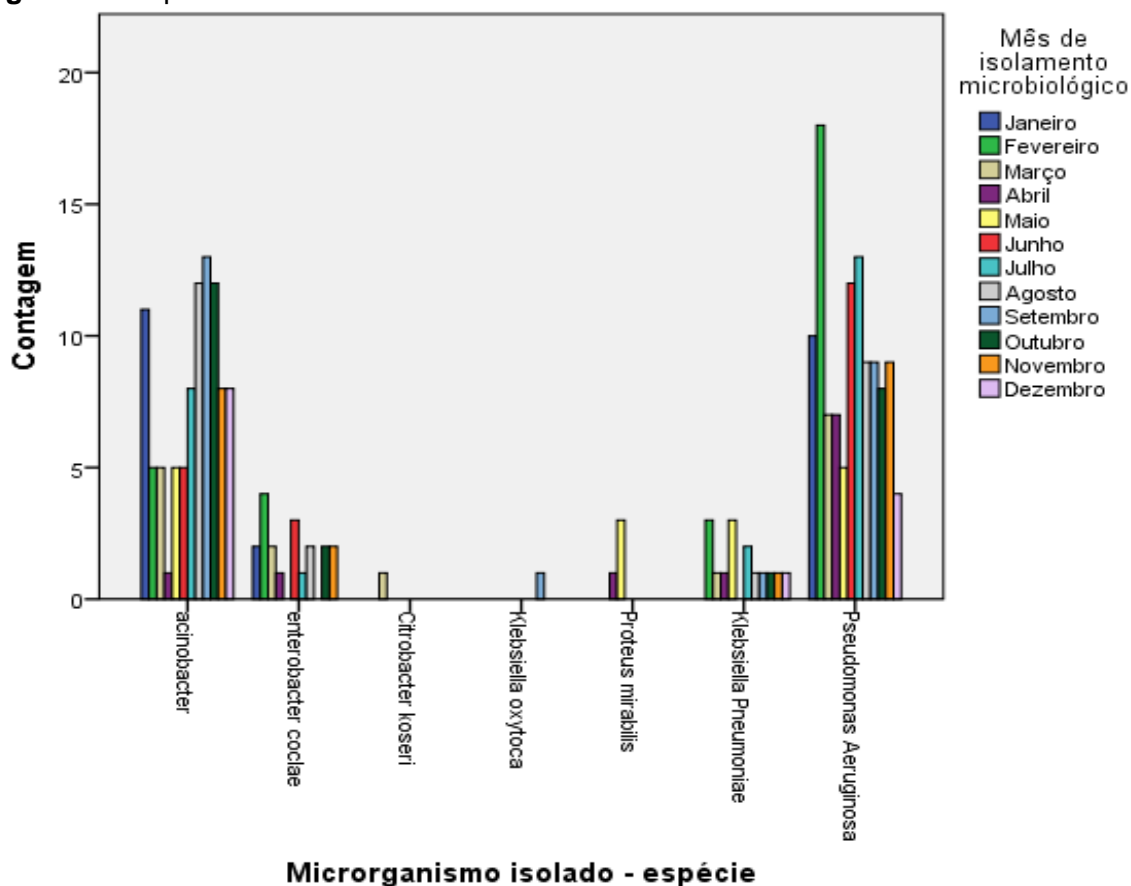
Em 65,6% dos doentes havia isolamento prévio de microrganismos no mesmo internamento e cerca de metade destes microrganismos (50,6%) eram multirresistentes.

Em relação aos microrganismos identificados, os mais prevalentes foram a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Acinobacter baumannii* (Tabela II). Podemos observar a incidência dos casos ao longo do período de tempo estudado na Figura 2.

Tabela II. Frequência de MRC isolados.

Microrganismo	Frequência	Porcentagem
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	110	45,3%
<i>Acinobacter baumannii</i>	93	38,3%
<i>Enterobacter cloacae</i>	19	7,8%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15	6,2%
<i>Proteus mirabilis</i>	4	1,6%
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0,4%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0,4%
Total	243	100,0%

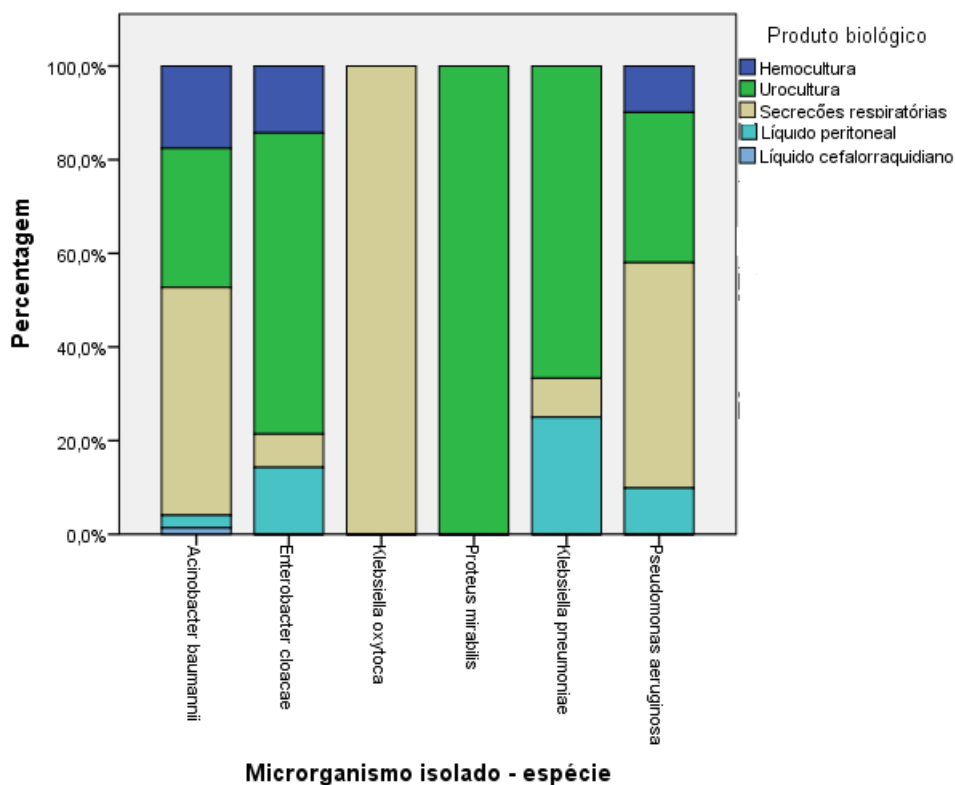
Figura 2. Frequência durante o ano de 2014.



A maioria dos agentes isolados (76,6%) foi considerado como agentes infetantes, sendo no total apenas 23,4% considerados como colonizantes. Para uma melhor interpretação do resultado das infeções por MRC, nos restantes dados apresentados foram apenas contabilizados os casos em que o agente isolado foi considerado infetante.

Os MRC foram isolados nos seguintes produtos biológicos: secreções respiratórias 78 casos, urina 68 casos, sangue 23 casos, líquido peritoneal 15 casos, líquido cefalorraquidiano 1 caso. Na Figura 3 podemos observar a distribuição dos diferentes tipos de produto biológico em relação á espécie de microrganismo isolado.

Figura 3. Produtos biológicos de acordo com microrganismos isolados.



A maioria dos doentes (92%) já se encontrava a realizar antibioterapia antes do isolamento microbiano e em 84,9% desses casos a antibioterapia foi alterada depois de identificado o agente e conhecida a sua susceptibilidade.

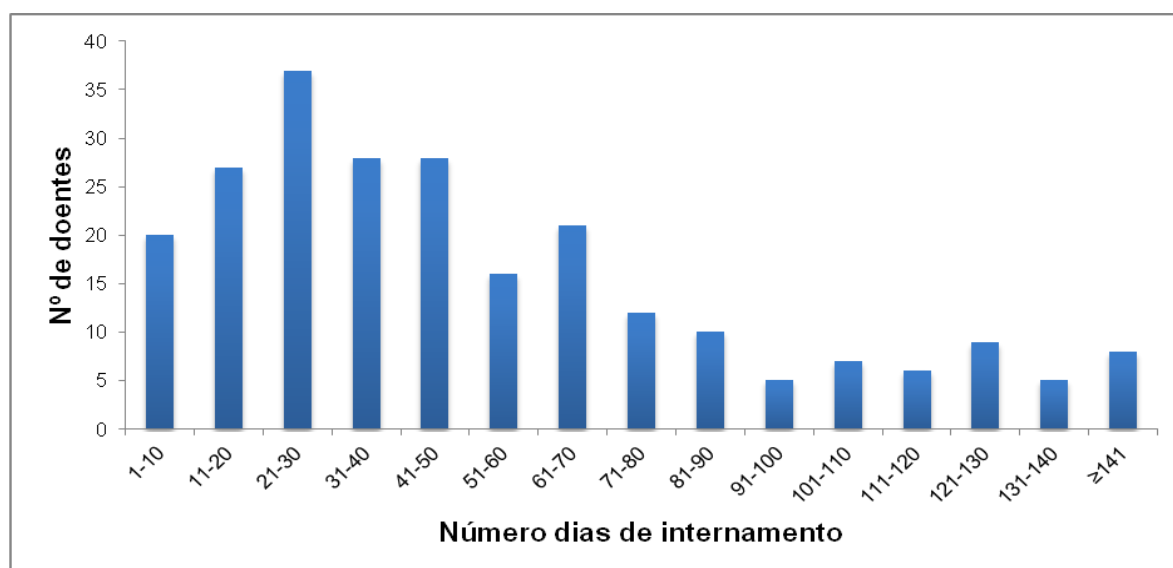
A duração do tratamento foi em média de 11,5 dias (min=0; max=43). Quando relacionado com o tipo de infeção em causa, podemos observar algumas alterações na média da duração do tratamento (Tabela III).

Tabela III. Duração média de tratamento consoante tipo de infeção.

	Respiratória	Corrente Sanguínea	Urinária	Peritonite	Meningite
Duração média de tratamento (dias)	13	14	9	13	9

A duração média do internamento do doente foi de 56,4 dias (min=2; max=263).

Figura 4. Frequência da duração do internamento.



O tempo entre o início do internamento até que foi isolado o agente teve uma média de 31 dias (min=1; max=236).

Os serviços de Medicina, Cuidados intermédios/intensivos e Cirurgia foram os locais onde os MRC foram mais encontrados no CHP (Tabela IV).

Tabela IV. Frequência de isolamento de MRC nos serviços do CHP.

Serviço	Frequência	Porcentagem
Medicina	46	24,9%
Cuidados intermédios	33	17,8%
Cuidados intensivos	26	14,1%
Cirurgia	26	14,1%
Urologia	9	4,9%
Neurocirurgia	9	4,9%
Nefrologia	8	4,3%
Fisiatria	7	3,8%
Neurologia	5	2,7%
Unidade transplantação hepática e pancreática	4	2,2%
Gastroenterologia	2	1,1%
Hematologia	2	1,1%
Pediatria	2	1,1%
Endocrinologia	2	1,1%
Cirurgia Vascular	2	1,1%
Pneumologia	1	0,5%
Ortopedia	1	0,5%

Se contabilizados apenas os casos considerados como agente infetante, a taxa de mortalidade foi de 32,2%.

Discussão

A incidência de microrganismos resistentes aos carbapenemes tem vindo a aumentar na Europa, bem como em todo o mundo⁽⁸⁾.

No entanto, a deteção destes microrganismos é influenciada pela qualidade e frequência das análises microbiológicas e esquemas de triagem. É necessária uma interpretação ponderada do número de doentes, taxas de incidência e cuidado quando se realiza a comparação destes números entre diferentes instituições de cuidados de saúde.

No ano de 2014 foram identificados 243 isolamentos de microrganismos resistentes aos carbapenemes em doentes internados no CHP. Uma explicação possível para este elevado número de casos é o facto de se tratar de um hospital central com elevada proporção de doentes em unidades de cuidados intensivos e outras unidades de cuidados especializados, onde a maioria dos doentes apresenta uma patologia crónica grave. Há também uma elevada percentagem de doentes imunocomprometidos e altamente suscetíveis a infeções graves.

Apesar de este estudo não ser caso-controlo, a descrição epidemiológica indica claramente que a maioria dos casos corresponde a doentes com doença crónica de base.

Catéter venoso central, sonda vesical e dreno foram identificados na maioria dos doentes, havendo apenas 32,1% sem dispositivos invasivos. A elevada percentagem de dispositivos neste tipo de infeções está de acordo com outros estudos realizados⁽⁹⁾ e deve-se ao facto de serem fatores de risco com um papel importante na disseminação destes microrganismos⁽²⁾.

O período de internamento, na sua maioria, foi prolongado, sendo superior a 8 dias em 84% dos casos. Quanto maior for o tempo de internamento, maior o risco de contacto com este tipo de bactérias responsáveis por graves quadros infecciosos associados a cuidados de saúde. Foi demonstrado que as infeções por BMR aumentam o tempo de internamento e também os custos para os hospitais⁽¹⁶⁻¹⁷⁻¹⁹⁾.

De notar que 10% dos isolamentos ocorreram nas primeiras 48 horas de hospitalização, sem história de internamentos prévios. O isolamento deste tipo de agentes em doentes que foram recentemente admitidos pode ser indicativo de que o patógeno foi adquirido na comunidade e que estes microrganismos também já se encontram disseminados fora do ambiente hospitalar⁽¹⁰⁾.

Observou-se uma alta taxa de antibioterapia prévia ao isolamento, motivada pela já utilização de antibioterapias empíricas e a tratamentos de outras infeções já identificadas. Vários estudos consideram o uso de antibiótico prévio um fator de risco para infeção por

BMR⁽²⁻¹¹⁾. A pressão seletiva exercida pelo uso de antibióticos é um fator determinante na emergência de resistência por parte destes microrganismos.

Na amostra estudada, em 84,9% dos doentes que se encontravam já sob antibioterapia, foi necessária a alteração da terapêutica devido à resistência dos microrganismos isolados, indicando que a terapêutica empírica nestes casos não era a adequada.

Nesta amostra 23,4% dos agentes isolados foram considerados colonizantes, uma percentagem elevada que nos mostra a importância dos procedimentos durante a colheita de material biológico. Estes devem ser realizados de forma adequada, pois podem provocar erros de interpretação, dificultando a avaliação médica dos mesmos e prejuízo no tratamento do doente⁽¹⁸⁾.

Pseudomonas aeruginosa e *Acinobacter baumannii* foram os microrganismos mais isolados, o que se encontra de acordo com variadas publicações⁽¹²⁾. O amplo uso de carbapenemes tem favorecido o desenvolvimento de resistências, particularmente rápida em relação a estes dois microrganismos, limitando o seu uso na terapêutica⁽¹³⁻¹⁴⁾. É importante referir que o seu uso deve ser feito de uma forma responsável, com duração e dosagens adequados, fatores que são por vezes negligenciados.

Não foi possível estabelecer uma relação causal temporal entre os isolamentos destas bactérias, tendo as infeções ocorrido em enfermarias diferentes e ao longo de todo o período de estudo. No entanto, não foi efetuado o estudo molecular dos microrganismos isolados que nos permita garantir a ausência de relação, sendo essa uma das limitações deste estudo.

Foi observada uma alta taxa de mortalidade, não sobrevivendo ao internamento 32,2% dos doentes com infeção por MRC. Embora esteja demonstrada uma associação positiva entre infeção por BMR e a mortalidade⁽²⁻¹²⁾, os casos referidos apresentavam patologia de base de mau prognóstico, que poderá ter condicionado a evolução clínica desfavorável, não sendo possível atribuir a causa da morte diretamente à infeção na maioria dos casos.

Concluindo, o potencial para a resistência tornou-se tão importante para a consideração terapêutica como a eficácia e tolerabilidade. É um problema local, com implicações globais. Enquanto os padrões de resistência devem ser determinados a nível institucional para elaborar estratégias de tratamento eficazes, existe uma tendência consistente de aumento da resistência e novos mecanismos de resistência. Pesquisas em todo o mundo são úteis na avaliação dos aspetos gerais do desenvolvimento de resistência e na antecipação de futuras necessidades médicas.

Serão de extremo interesse, no futuro, estudos prospetivos multicêntricos no sentido de avaliar eficazmente a emergência destas estirpes resistentes e implementar atempadamente

medidas de controlo. A continuação deste trabalho para comparação com um grupo de doentes com os mesmos fatores de risco em que não foi isolado um MRC, permitiria uma melhor interpretação do que acarreta para as instituições prestadoras de cuidados de saúde este tipo de microrganismos.

Referências

1. Pak-Leung H. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, ceftazidime-resistant Gram-negative bacilli, and vancomycin-resistant enterococci before and after invasive care unit admission. 2003;31:1175-1182.
2. Miyakis S, Pefanis A, Tsakris A. The Challenges of Antimicrobial Drug Resistance in Greece. 2011;53(2):177–184.
3. Kohlenberg A, Schwab F, Meyer E, Behnke M, Geffers C, Gastmeier P. Regional trends in multi-drug-resistant infections in German intensive care units: a real time model for epidemiological monitoring and analysis. 2009;73:239-245 .
4. Siegel J, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Management of multidrug-resistant organisms in healthcare settings. *Infect Control*. 207;35:165-93.
5. Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. An update from the Infectious Diseases Society of America. 2009;48(1):1-120.
6. Relatório e Contas | Centro Hospitalar do Porto, EPE | 2014.
7. Horan T, Andrus M, Dudeck M. CDC/NHSN surveillance definition of health care-associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. 2008;36:309-322.
8. European Centre for Disease Prevention and Control: Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network. Stockholm. 2013.
9. Tacconeli E, Pop-Vicas A. Influx of multidrug-resistant, gram-negative bacteria in the hospital setting and the role of elderly patients with bacterial bloodstream infection. 2009;22:279-284.

-
10. Niels Kleinkauf, Angelika Hausemann. Burden of carbapenem-resistant organisms in the Frankfurt/Main Metropolitan Area in Germany 2012/2013 – first results and experiences after the introduction of legally mandated reporting. 2014; 6:10-16.
 11. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-spectrum lactamases and clinical outcomes: current data. 2006;42:164-172.
 12. Kim YK, Pai H, Lee HJ, Park SE. Bloodstream infections by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology and clinical outcome. Antimicrob Agents Chemothe. 2002;46:1481-1491.
 13. Landman D, Quale JM, Mayorga D. Clonal outbreak of multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* in Brooklyn, NY. 2002;162:1515-20.
 14. Jaccard C, Troillet N, Harbarth S, et al. Prospective randomized comparison of imipenem-cilastatin and piperacillin-tazobactam in nosocomial pneumonia or peritonitis. 1998;42:2966-72.
 15. Lepper PM, Grusa E, Reichl H, et al. Consumption of imipenem correlates with β -lactam resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. 2002;46:2920-5.
 16. Aziz Japoni. Multidrug-resistant bacteria isolated from intensive-care-unit patient samples. 2008;74:17-20.
 17. Trick WE, Weinstein RA, DeMarais PL, et al. Colonization of skilled-care facility residents with antimicrobial-resistant pathogens. 2001;49:270-6.
 18. Megraud F. Antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. 2004;53:1374-84.
 19. Engemann J, Carmeli Y, Cosgrove S. Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection. 2003;36:592-8.

-
20. Rodloff A, Goldstein E, Torres A. Two decades of imipenem therapy. 2006;58(5):916-929.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que, de uma forma ou de outra, me têm acompanhado nesta longa caminhada, e me têm ajudado a chegar mais perto dos meus objetivos. Em especial aos meus orientadores, Dra. Ernestina Reis e Dr. Paulo Pereira, por terem aceitado acompanhar-me na realização deste trabalho, e por toda a ajuda, paciência e atenção com que o fizeram.